

The Effects of Cyclic Hydrostatic Pressure on Intervertebral Disc Cells

M. Kasra

Associate Professor, BioMedical Engineering School, Amir Kabir University of Technology,
Tehran, Iran

Abstract

The influence of compression on intervertebral disc cells has been examined in a number of previous studies. However, in most of these studies hydrostatic pressure was used at low levels, and few studies reported the effects of high pressures within a large range of frequencies on intervertebral disc cells response. The aim of the study was to test the hypothesis that frequency dependent hydrostatic pressure stimulates collagen synthesis in the intervertebral disc cells to a certain level. Hydrostatic pressure was applied to the intervertebral disc cells in a monolayer culture using a custom-made piston chamber pressure vessel. Briefly, cells were harvested from the intervertebral discs in the lumbar region of a pig, plated, and grown to confluence in culture flasks; they were then trypsinized and re-attached to 35mm culture dishes. With cyclic, hydrostatic loading, the cells were exposed to varied pressures and frequencies for 20 minutes a day for 3 and 7 days (the controls received no loading). The intracellular collagen was labeled with 3[H]-proline after loading on days 2 and 6. Following treatments on days 3 and 7, both the media and cells were frozen separately. Scintillation counting determined the amount of collagen incorporated in the cells and released into the media; these values were normalized by DNA. In this culture system, the results indicated significant differences ($P < 0.05$) in cell response at different loading conditions. Compared to the control group there was a significant decrease in released collagen at high loading amplitude and low frequency (5MPa, 1Hz) which increased significantly at high loading frequencies (5MPa, 15Hz) indicating anabolic response at high pressures which became catabolic at high frequencies.

Keywords: Hydrostatic pressure, Dynamics, Intervertebral disc, Disc cells, Collagen.

* Corresponding author

Address: Mehran Kasra, School of Biomedical Engineering, Amir Kabir University of Technology, Hafez Ave., Tehran, Iran

Tel: +98 21 64542350

Fax: +98 21 66468186

E-mail: Mehran_kasra@yahoo.com

اثر فشار هیدرواستاتیک سیکلی بر سلول‌های دیسک بین مهره‌ای

مهران کسری

دانشیار، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران

چکیده

در مطالعات مختلف تأثیر فشار بر سلول‌های دیسک بین مهره‌ای (IVD) در شرایط مختلف بارگذاری دینامیکی مورد بررسی قرار گرفته است. با وجود این، در بسیاری از این مطالعات فشار هیدرواستاتیک در مقادیر پائین استفاده شده و مطالعات کمی تأثیر اعمال فشار بالا را با فرکانس‌های مختلف بر سلول‌های IVD گزارش کرده‌اند. در این پژوهش و در ادامه این مطالعات، به منظور بررسی فرضیه وابستگی تحریک سنتز کلاژن در این گروه از سلول‌ها به فشار هیدرواستاتیک اعمالی و فرکانس آن، آزمایش‌هایی بر مبنای سیستم کشت تک لایه‌ای طرح‌ریزی شد. برای اعمال فشار هیدرواستاتیکی، سلول‌های IVD به صورت کشت تک لایه‌ای در یک مخزن تحت فشار طراحی شده تحت بارگذاری دینامیکی قرار گرفتند. سلول‌ها از IVD ناحیه ستون مهره‌های کمر خوک تهیه شده و در فلاسک کشت سلولی رشد داده و پس از جدایش با تریپسین، در ظروف ۳۵mm کشت و بارگذاری شدند. سلول‌ها به مدت ۳ و ۷ روز (هر روز ۲۰ دقیقه) تحت بارگذاری هیدرواستاتیک چرخه‌ای، با فشار و فرکانس‌های مختلف قرار گرفتند (به نمونه کنترل نیرویی اعمال نمی‌شود)، کلاژن درون سلولی با 3[H]-proline در روز دوم و ششم بارگذاری، نشان‌گذاری شد. در روز سوم و هفتم پس از بارگذاری، محیط کشت و سلول‌ها به‌طور جداگانه منجمد شدند. شمارش گر جرقه‌ای مقدار کلاژن سلول‌ها و کلاژن آزاد شده در محیط را تعیین کرد؛ این مقادیر به وسیله DNA نرمالیزه شدند. در این سیستم، اختلاف قابل ملاحظه‌ای در نتایج واکنش سلولی در شرایط مختلف بارگذاری ($p < 0.05$) مشاهده شد. در مقایسه با نمونه‌های کنترل، مقدار کلاژن آزاد شده در نیروی بالا و فرکانس پائین (۵MPa و ۱Hz)، کاهش و در فرکانس بالا (۵MPa و ۱۵Hz)، افزایش یافت که نشان دهنده واکنش آنابولیکی در فشار بالا و پاسخ کاتابولیکی در فرکانس بالاست.

کلید واژگان: فشار هیدرواستاتیک، دینامیک، دیسک بین مهره‌ای، سلول دیسک، کمر درد.

*عده‌دار مکاتبات

نشانی: تهران، دانشکده مهندسی پزشکی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر

تلفن: ۰۲۱-۶۴۵۴۲۳۵۰، دورنگار: ۰۲۱-۶۶۴۶۸۱۸۶، پیام نگار: Mehran_kasra@yahoo.com

۱- مقدمه

مشکلات دیسک بین مهره‌ای^۱ (IVD)، از اصلی‌ترین دلایل کمردرد است. طبق آمار حدود ۷۰٪ افراد کمردرد را در طول عمر خود تجربه می‌کنند [۱]، به علاوه کمردرد یکی از دلایل اصلی بیکاریست [۲]. با وجود اهمیت کمردرد به عنوان یک موضوع اساسی در بهداشت عمومی، اطلاعات کلی پیرامون علت این بیماری اندک است [۳]. می‌دانیم دیسک بین مهره‌ای ضمن فعالیت‌های روزانه تحت نیروهای نوسانی هیدرواستاتیک قرار می‌گیرد [۴]. نشان داده شده است که نیروی دینامیک با فرکانس بحرانی نزدیک به فرکانس تشدید ستون فقرات در انسان (۸-۴ Hz)، اثر مخربی بر خواص بافت دیسک دارد. اینکه وابستگی این تخریب^۲ تنها به عوامل مکانیکی و بزرگی نیروی اعمالی بوده یا اینکه علاوه بر آن عوامل بیولوژیکی مؤثر بر متابولیسم سلولی نیز شرکت دارند، هنوز مشخص نشده است [۵، ۶]. بخشی از مشکلات افراد مسن و سالخورده مثل خشکی ستون فقرات و درد در ناحیه کمر و گردن و نیز عدم توانایی آنها، ناشی از آسیب و اختلال دیسک بین مهره‌ای با افزایش سن است. کاهش میزان تغذیه، از بین رفتن سلول‌های زنده، پیری سلول‌ها و تغییرات کیفیت پروتئین بافت، انباشتگی مولکول‌های حاصل از تخریب ماتریس و شکست خستگی ماتریس برخی از دلایل تخریب دیسک هستند که از کهولت ناشی می‌شوند. سلول‌های دیسک بین مهره‌ای توانایی محدودی در ترمیم ماتریس داشته و در آغاز و پیشرفت میزان تخریب دیسک شرکت می‌کنند [۷، ۸]. IVD یک چهارم طول کل ستون فقرات را شامل می‌شود و از لایه خارجی فیبری^۳ (AF)، و هسته داخلی^۴ (NP)، تشکیل شده است. NP ماده‌ای آبدار و ژل مانند در مرکز است و به وسیله AF که لاستیکی شکل، مستحکم و دارای ساختار لایه‌ای است، احاطه می‌شود. سلول‌های هسته شبیه کندروسیت بوده و ماده زمینه آن حاوی کلاژن نوع II و پروتوگلیکان است. پروتوگلیکان‌ها آب‌دوست هستند و باعث تورم هسته می‌شوند. AF که از کلاژن نوع I تشکیل شده و حاوی سلول‌های شبه فیروبلستی است، فشار ناشی از این تورم را

تحمل می‌کند. ساختار IVD مشابه بالشتکی از غضروف لیفی است و به عنوان سیستم جذب شوک وارده به ستون فقرات عمل می‌کند. نوع سلول‌های دیسکی از هسته به لایه خارجی در جهت شعاع دیسک و با سن تغییر می‌کنند.

ناحیه ارتباطی بین دو بخش NP و AF ناحیه گذر مرزی^۵ (TZ) نامیده می‌شود و حاوی هر دو نوع سلول از نواحی NP و AF است. ترکیب شیمیایی کلاژن، از کلاژن نوع I در ناحیه AF تا کلاژن نوع II در ناحیه گذر تغییر می‌کند. در ناحیه NP، کلاژن بیشتر از نوع II و حاوی مقادیر زیادی از پروتوگلیکان متصل متراکم و پنخس شده است [۹، ۱۰].

ناپایداری ساختاری و عملکرد نامناسب IVD در از بین رفتن دیسک نقش مهمی دارد. عوامل بیومکانیکی و بیولوژیکی هر دو می‌توانند در تسریع تخریب مؤثر باشند [۱۱]. آن‌طور که از بزرگی نیرو و مدت اعمال آن به ستون فقرات برمی‌آید، عوامل مکانیکی از جمله تنش‌های تکراری و ضربه، نقش مهمی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول^۶ دارند [۱۱-۱۳]. در بسیاری از تحقیقات پیشین، واکنش سلولی تحت بارگذاری استاتیک بررسی شده است. اما این نوع بارگذاری شرایط درون‌تن را به خوبی نشان نمی‌دهد [۱۴، ۱۵]. مطالعه در حوزه بارگذاری دینامیک با دامنه بالا و فرکانس گسترده با پژوهش‌های کسری و همکاران [۴، ۱۱] آغاز شد.

اعمال بارگذاری هیدرواستاتیک سلول‌های IVD بر مبنای مدل خرگوش و در محدوده وسیعی از نیرو و فرکانس، به وسیله سیستم کشت تک لایه‌ای و سیستم کشت سه بعدی هسته، نشان می‌دهد که در سیستم تک لایه‌ای، سلول‌های دیسک تخریب بیشتری دارند. به علاوه در این سیستم تنش هیدرواستاتیک بالا در فرکانس بالا (۳MPa و ۲۰Hz) در AF، جذب پرولین‌های نشان‌کننده در سلول را تحریک می‌کند، در حالی که مقادیر پائین‌تر فرکانس و فشار (۰/۷۵MPa و ۱Hz) تأثیر اندکی دارد [۴]. در سیستم کشت سه‌بعدی هسته، فرکانس و نیروی زیاد، سنتز پروتئین را افزایش و تخریب آن را کاهش می‌دهد [۴]. با توجه به این موارد به نظر می‌رسد بین تخریب پروتئین و اندازه نیرو در محدوده مقادیر

¹ Intervertebral Disc² Degeneration³ Annulus Fibrosus⁴ Nucleus Pulposus⁵ Transition Zone⁶ Apoptosis

۳۵mm (۶۰۰۰۰۰ سلول در هر ظرف) در محیط کشت (DMEM حاوی ۱۰٪ سرم) ریخته شده و یک شبانه‌روز پیش از اولین مرحله بارگذاری، در دما و فشار مشخص نگهداری شدند. هفت مرحله عملیات هیدرواستاتیک چرخه‌ای در مخزن فشار (در هر مرحله $n=4$ است) ۳ و ۷ روز و در هر روز به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. پروتکل بارگذاری مطابق جدول ۱ انتخاب شده است.

یک روز پیش از پایان عملیات بارگذاری، کلاژن سلولی به‌وسیله (۲۰uCi/mL) $[^3H]$ -proline مشخص شد. در روز سوم وهفتم، سیستم کشت به مدت ۱۶ ساعت در محیطی حاوی (۲۰uCi/mL) $[^3H]$ -proline و اسکوربات (۲۵ ug/ml) نگهداری شده و ۳ ساعت قبل از آخرین مرحله بارگذاری در روز سوم و هفتم این محیط نشان‌گذاری حذف شد. پس از پایان عملیات، سیستم کشت مجدداً به مدت ۳۶ ساعت در محیط تازه انکوبه^{۱۵} شد. محیط و سلول‌ها به‌وسیله شمارش‌گر جرقه‌ای^{۱۶} مایع آنالیز و DNA سلول توسط آزمون فلورومتری مورد سنجش قرار گرفت.



شکل ۱- سیستم تحریک مکانیکی سلول‌های کشت شده تحت فشار هیدرولیکی (اقتباس شده از [۴])

جدول ۱- پروتکل بارگذاری

| | | | | | | | |
|------|------|-----|-----|-----|-----|------|--------------------|
| ۱۵ | ۱۵ | ۸ | ۸ | ۱ | ۱ | - | فرکانس (Hz) |
| ۵ | ۳ | ۵ | ۳ | ۵ | ۳ | - | فشار (MPa) |
| ۱۵-۵ | ۱۵-۳ | ۸-۵ | ۸-۳ | ۱-۵ | ۱-۳ | شاهد | نام‌گذاری (Hz-MPa) |

مشخصی از فرکانس و نیرو در سیستم کشت سه بعدی ارتباط خطی وجود داشته باشد. در آنالیز کشت سه بعدی سلول‌های خوکی، کسری و همکاران [۱۱] نشان دادند که اعمال نیروی ۱MPa در فرکانس ۵Hz اثر کاتابولیکی^۷ (تخریبی) دارد. با توجه به این امر به نظر می‌رسد که تخریب دیسک در اثر ارتعاشات در فرکانس تشدید کل بدن (۵Hz)، تنها به علت مقدار زیاد دامنه بار در فرکانس تشدید نیست بلکه می‌تواند از واکنش بیولوژیکی دیسک در فرکانس ۵Hz نیز اثر پذیرد که به تولید بافتی با کیفیت پائین توسط سلول‌ها منجر می‌شود. در ادامه تحقیقات قبلی در این زمینه، هدف پژوهش حاضر که در دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه تنسی^۸ انجام گرفته، ارائه پروتکل جدید بارگذاری بر مبنای یک سیستم کشت جدید است.

کمر درد اغلب ناشی از اختلال در عملکرد یا از بین رفتن دیسک بین مهره‌ای بوده و از عوامل مختلفی نشئت می‌گیرد. در پژوهش‌های پیشین نشان داده شده است که سلول‌های IVD به تغییرات pH، فشار اسمزی، عوامل ژنتیکی و بارگذاری حساس هستند و عوامل بیولوژیکی و بیومکانیکی هر دو بر سرعت تخریب دیسک اثر می‌گذارند. در تحقیقات بسیاری به بررسی پاسخ سلولی تحت بارگذاری مکانیکی پرداخته شده است که تطابق چندانی با شرایط درون‌تن ندارد. در این پژوهش هدف ایجاد محیط بهتر برای بارگذاری چرخه‌ای فشار بالا و بررسی تأثیرات سازنده و مخرب آن بر سنتز سلول‌های IVD است.

۲- روش

نواحی گذر مرزی از IVD خوکی (۳ ساعت پس از مرگ) با استفاده از تجزیه با هیالورونیداز^۹، کلاژناز/ پروناز^{۱۰} E^{۱۱} از نمونه ثابتی جدا شد. سلول‌ها (مجموعه ناهمگنی از فیبروبلاست و کندروسیت) در شرایط تک لایه‌ای استاندارد سلولی (۵CO₂٪، محیط کشت DMEM^{۱۱} حاوی سرم FBS^{۱۲} ۱۰٪، آنتی‌بیوتیک Pen/Strep^{۱۳} ۱٪، ضد قارچ^{۱۴} ۰/۵٪) رشد داده شدند (شکل ۱). سلول‌ها پس از کشت اول در ظروف کشت

⁷ Catabolic

¹¹ Dulbecco's Minimum Essential Medium

¹⁵ Incubation

⁸ Tennessee

¹² Fetal Bovine Serum

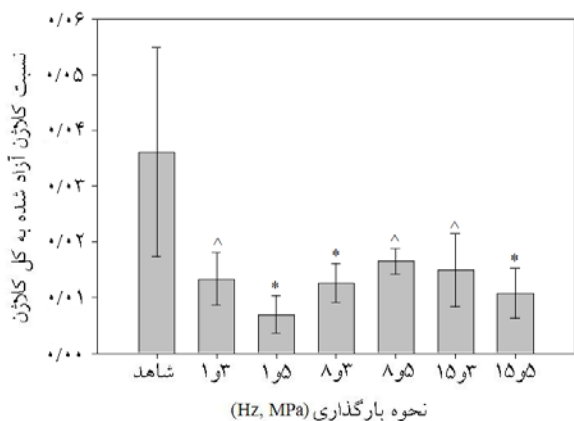
¹⁶ Scintillation counter

⁹ Hyaluronidase

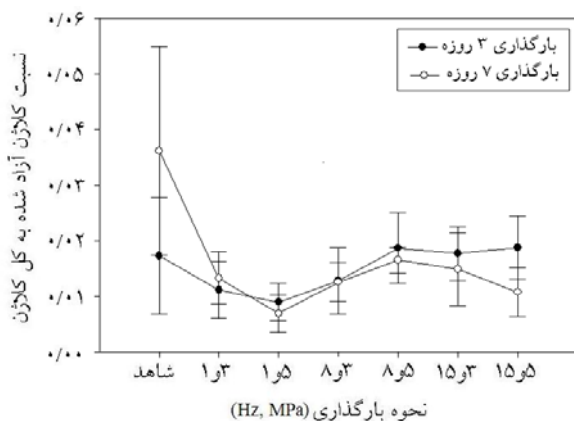
¹³ Penicillin/Streptomycin

¹⁰ Collagenase/Pronase

¹⁴ Fungizone



شکل ۳- نسبت کلاژن آزاد شده (RCR) در آزمایش‌های ۷ روزه. علائم * و ^ و x نشان دهنده اختلاف بارز در مقایسه با نمونه کنترل هستند که کاهش در شرایط متفاوت را نشان می‌دهند.



شکل ۴- مقایسه نتایج RCR در آزمایش‌های ۳ و ۷ روزه

هر دو آزمایش بارگذاری ۳ و ۷ روزه رفتار یکسانی در رهاسازی کلاژن دارند و کمترین مقدار نیز در ۱Hz - ۵MPa مشاهده می‌شود (شکل ۴).

۴- بحث

این پژوهش بر مبنای روش پایه‌گذاری شده به وسیله کسری و همکاران [۴]، به منظور پیش‌بینی اثر فشار هیدرواستاتیکی دینامیک بر سلول‌های دیسک بین مهره‌ای در فرکانس‌های مختلف، انجام گرفته است. به علت استفاده از یک محفظه هیدرولیکی و اعمال نیرو از طریق سیال، سختی سیستم بیشتر از روش‌های سنتی بر پایه اعمال بار از طریق هوا در مخازن تحت فشار است. از این رو می‌توان نیروهای بالاتر و طیف

با استفاده از روش کروماتوگرافی اندازه ویژه برای حذف پروتئین‌های کوچک‌تر تعیین شد و نیز شمارش جرقه‌ای توسط تعداد سلول‌ها و مقدار کلاژن داخل سلولی^{۱۷} (IC) و کلاژن آزاد شده^{۱۸} (RC) انجام گرفت و به عنوان CPM/DNA(ug)/1000 گزارش شد. نهایتاً نسبت کلاژن آزاد شده به کل کلاژن^{۱۹} (RCR) به وسیله رابطه (۱) محاسبه شد:

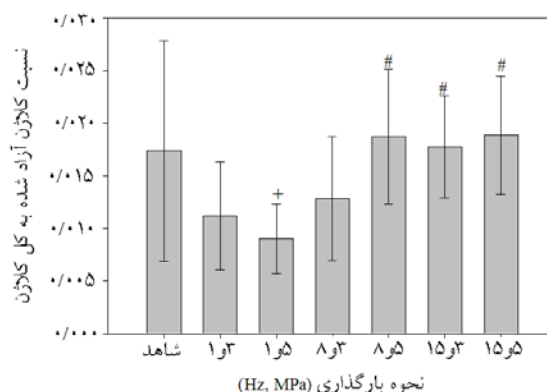
$$RCR = \frac{RC}{IC + RC} \quad (1)$$

در این رابطه مقدار IC+RC مقدار کل پروتئین سنتز شده به وسیله سلول است و RCR نماینده ضعف سلول در تولید پروتئین قابل استفاده برای ساخت بافت دیسک است.

در آنالیز داده‌ها، به منظور بررسی احتمال وجود اختلاف بین گروه‌های مختلف، آنالیز واریانس^{۲۰} (ANOVA) در سطح $p < 0.05$ انجام شد. سپس برای ارزیابی اختلاف بین دو گروه، از آزمون مقایسه‌ای توکی^{۲۱} استفاده شد.

۳- نتایج

با توجه به افزایش مقدار کلاژن آزاد شده برای آزمایش‌های ۳ روزه و نمونه شاهد در فرکانس‌های بالا در مقایسه با نمونه‌هایی که تحت فرکانس ۱Hz قرار گرفتند (شکل ۲)، مشخص می‌شود که سنتز کلاژن به میزان فرکانس تحریک وابسته است. از سوی دیگر، کاهش مشخصی در مقدار PCR در تمامی نمونه‌های آزمایش‌های ۷ روزه در مقایسه با نمونه کنترل وجود دارد (شکل ۳).



شکل ۲- نسبت کلاژن آزاد شده (RCR) در آزمایش‌های ۳ روزه. گروه‌های مختلف با علائم متفاوت (+ و #) اختلاف بارزی دارند ($p < 0.05$). نسبت بالاتر، میزان تخریب بیشتر را نشان می‌دهد.

¹⁷ Incorporated Collagen

¹⁸ Released Collagen

¹⁹ Ratio of Collagen Released

²¹ Analysis of Variance

²¹ Tukey

کاربردهای کوتاه مدت، بارگذاری و فرکانس در تحریک سنتز کلاژن و کاهش میزان تخریب مفیدند. انتظار می‌رود که چنین مطالعاتی سازوکار ارتعاش وارد به دیسک بین مهره‌ای را در مقیاس سلولی مشخص نماید. به علاوه پیش‌بینی می‌شود که بارگذاری دینامیک به صورت کنترل شده می‌تواند عاملی در پیشگیری از مشکلات این حوزه باشد و در نهایت این رویکرد جدید در بارگذاری هیدرواستاتیک سلول‌ها با فرکانس و نیروهای مختلف، بررسی اثرات سازنده و مخرب این عوامل را میسر می‌سازد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری خانم یاسمن گنجی (دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بافت دانشگاه صنعتی امیرکبیر) تشکر می‌شود.

مراجع

- [1] Pope M. H., Magnusson M., Wilder D. G., Kappa Delta Award. Low back pain and whole body vibration, Clin Orthop, 1998; 354: 241-248.
- [2] Hutton W. C., Elmer W. A., Boden S. D., Hyon S., Toribatake Y., Tomita K., Hair G. A., The effect of hydrostatic pressure on intervertebral disc metabolism, Spine, 1999; 24: 1507-1515.
- [3] Frymoyer J.W., Magnitude of the problem. In: (Eds). S. Wiesel, J.N. Weinstein, H. Herkowitz, J. Dvorak and G. Bell, The Lumbar Spine. W.B. Sanders company, Philadelphia, 1996: 8-16.
- [4] Kasra M., Wang S., Martin J., Wang S.T., Choi W., Buckwalter J., Effect of dynamic hydrostatic pressure on intervertebral disc cells: a rabbit model. J Orthop Res, 2003; 21: 597-603.
- [5] Sato K., Kikuchi S, Yonezawa T In vivo intradiscal pressure measurement in healthy individuals and in patients with ongoing back problems. Spine 1999; 24 (23): 2468-74.
- [6] Ranu H.S., Measurement of pressures in the nucleus and within the annulus of the human spinal disc: due to extreme loading, Proc Inst Mech Eng; 1991; 205 (1): 141-146.
- [7] Gruber H.E., Hanley E.N. Jr, Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. Comparison of surgical specimens with normal controls. Spine, 1998; 23 (7): 751-7.
- [8] Buckwalter J.A., Aging and degeneration of the human intervertebral disc. Spine, 1995; 20 (11):1307-14.
- [9] Guiot B.H., Fessler R.G., Molecular biology of degenerative disc disease. Neurosurgery, 2000; 47 (5): 1034-40.
- [10] Lyons G., Eisenstein S.M., Sweet M.B., Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. Biochim Biophys Acta, 1981; 673(4): 443-53.

گسترده‌تری از فرکانس را مطابق با شرایط مختلف بارگذاری دینامیکی درون تن (از خفیف تا شدید) بررسی کرد.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که در محدوده خاصی از فرکانس (بین ۱-۸ Hz)، تخریب سلول‌های IVD رخ می‌دهد. با وجود این، در آزمایش‌های ۷ روزه در مقایسه با نمونه شاهد اثرات سازنده مشاهده شد که اثر مثبت تحریک مکانیکی را نشان می‌دهد (شکل ۳).

عوامل مختلفی در تخریب سلول‌های IVD مؤثرند، از جمله گسیختگی سیتوپلاسم یا اسکلت سلولی، افزایش تولید MMP ناشی از تغییر شرایط تنش، و متغیرهای دیگری که هنوز مشخص نشده است.

در مطالعه قبلی با استفاده از سیستم کشت سه‌بعدی آلجیناتی^{۲۲} در محدوده گسترده‌ای از فرکانس و در فشار ثابت، تأثیر فرکانس تحت فشار فیزیولوژیکی (۱ MPa) بررسی و اثر کاتابولیک فرکانس بحرانی ۵ Hz نشان داده شد [۱۱]. در سیستم کشت تک لایه‌ای این مطالعه، فرکانس ۵ Hz آزمایش نشده است و اثرات کاتابولیکی در فرکانس بالاتر (۸ Hz) مشاهده شد. مطابق با کارهای پیشین [۴]، در این پژوهش نیز نقش آنابولیک مقادیر بالاتر بارگذاری (۵ MPa) و فرکانس ۱ Hz در هر دو روش ۳ و ۷ روزه بررسی شد (شکل‌های ۲-۴).

در این پژوهش تنها به تغییرات آهنگ سنتز و میزان تخریب پرداخته شده است. سایر عوامل مثل تغییر شکل سلول، سن، تکثیر و بیان ژنی هنوز تحت مطالعه است. به عنوان رویکردی در درمان و ترمیم بافت در بیماری‌های تخریب دیسک می‌توان تحریک ناشی از بارگذاری را با روش‌های دیگری مثل استفاده از عوامل رشد خارجی [۱۶، ۱۷] ترکیب کرد. حالات مختلف بارگذاری از نظر بزرگی، فرکانس و مدت اعمال، می‌توانند به عنوان مقادیر بهینه نقش سازنده‌ای در تولید و بازسازی بافت و جلوگیری از تخریب دیسک داشته باشند. اما در مقادیر بالاتر از این حدود بهینه، دیسک دچار تخریب می‌شود.

با در نظر گرفتن فرکانس، نیرو و مدت بارگذاری در این پژوهش، مشابه مطالعات قبلی [۴، ۱۱] مشاهده می‌شود که در

²² Alginate

- synthesis and matrix metalloproteinase production in the human lumbar intervertebral disc, *Spine*, 1997; 15: 1085-1091.
- [15] Ishihara H., McNally D. S., Urban J. P., Hall A. C., Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis in different regions of the intervertebral disc, *J Appl Physiol*, 1996; 80: 839-846.
- [16] Thompson J.P., Oegema T.R. Jr, Bradford D.S., Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors, *Spine*, 1991; 16 (3): 253-60.
- [17] Gruber H.E., Norton H.J., Hanley E.N., Jr Anti-apoptotic effects of IGF-1 and PDGF on human intervertebral disc cells in vitro. *Spine*, 2000; 25 (17): 2153-7.
- [11] Kasra M., Merryman W.D., Loveless K.N., Goel V.K., Martin J.D., Buckwalter J.A., Frequency Response of Pig Intervertebral Disc Cells Subjected to Dynamic Hydrostatic Pressure, *J Orthopaedic Research*, 2006; 24: 1967-1973.
- [12] Lotz J.C., Chin J.R., Intervertebral disc cell death is dependent on the magnitude and duration of spinal loading, *Spine*, 2000; 25 (12): 1477-83.
- [13] Iatridis J.C., Mente P.L., Stokes I.A., Aronsson D.D., Alini M Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model, *Spine*, 1999; 24 (10): 996-1002.
- [14] Handa T., Ishihara H., Ohshima H., Osada R., Tsuji H., Obata K., Effects of hydrostatic pressure on matrix